



**FACULTAD DE FARMACIA**  
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**NUEVAS ESTRATEGIAS PARA EL DISEÑO DE**  
**VACUNAS FRENTE A *MYCOBACTERIUM***  
***TUBERCULOSIS***

Autor: Alberto Galán Hidalgo

Tutor: Rebeca María del Mar Alonso Monge

Convocatoria: Junio 2017

## Índice

<b>Resumen .....</b>	<b>3</b>
<b>1. Introducción y antecedentes .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Situación actual de la tuberculosis .....</b>	<b>3</b>
<b>1.2. Descripción del agente patógeno .....</b>	<b>5</b>
<b>1.3. Fases en el desarrollo de la tuberculosis .....</b>	<b>5</b>
<b>1.4. Diagnóstico.....</b>	<b>6</b>
<b>1.5. Tratamiento .....</b>	<b>7</b>
<b>1.6. Vacuna utilizada hasta la fecha .....</b>	<b>8</b>
<b>2. Objetivos .....</b>	<b>9</b>
<b>3. Metodología .....</b>	<b>10</b>
<b>4. Resultados y discusión .....</b>	<b>10</b>
<b>4.1. Limitaciones de la vacuna BCG y búsqueda de nuevas vacunas ....</b>	<b>10</b>
<b>4.2. Tipos de vacunas en desarrollo.....</b>	<b>12</b>
<b>4.3. Vacunas preventivas de subunidades.....</b>	<b>12</b>
<b>4.4. Vacunas preventivas vivas .....</b>	<b>15</b>
<b>4.4.1. Vacunas recombinantes vivas .....</b>	<b>15</b>
<b>4.4.2. Vacunas vivas atenuadas .....</b>	<b>16</b>
<b>4.5. Vacunas terapéuticas .....</b>	<b>18</b>
<b>5. Conclusiones .....</b>	<b>18</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>20</b>

## Resumen

*Mycobacterium tuberculosis* es una micobacteria ácido-alcohol resistente causante de una de las enfermedades infecciosas más letales, la tuberculosis. Se estima que una tercera parte de la población mundial se encuentra infectada por este patógeno en la actualidad, aunque esta patología estuvo a punto de ser erradicada, pero su incidencia ha aumentado en los últimos años, entre otras causas por la irrupción del VIH y de las formas del patógeno resistentes al tratamiento con antibióticos. A comienzos del siglo XX se desarrolló la vacuna BCG frente a la tuberculosis, la única comercializada hasta ahora. Sus principales limitaciones radican en la escasa capacidad que presenta para inducir una respuesta inmune duradera en el tiempo, y en que no es capaz de proteger frente a la tuberculosis pulmonar, principal vía de transmisión de la enfermedad, lo que dificulta conseguir la erradicación de la enfermedad. A la vista de esta situación, en este trabajo se pretende llevar a cabo un análisis de la información publicada sobre los avances que se están logrando en el desarrollo de nuevas vacunas, que van dirigidas a ofrecer una mayor protección frente a la tuberculosis. Se ha efectuado una selección de las candidatas más relevantes, todas ellas en distintas fases de ensayos clínicos, diferenciadas en función de su acción en: terapéuticas o preventivas, cuya utilización está indicada en función de la situación previa de los pacientes.

## 1. Introducción y antecedentes

### 1.1. Situación actual de la tuberculosis

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa y contagiosa de afección pulmonar, causada principalmente por la micobacteria grampositiva *Mycobacterium tuberculosis*, que también recibe el nombre de bacilo de Koch. En el año 1882, fecha del descubrimiento y aislamiento de dicho bacilo por parte del microbiólogo Robert Koch, la tuberculosis causaba una séptima parte de todas las muertes en Europa y un tercio de las muertes en los adultos jóvenes en edad productiva. La introducción de antibióticos en la década de 1950 supuso un descenso prolongado del número de infecciones en países desarrollados, aunque desde 1980 con la aparición de la epidemia del VIH, se ha producido un aumento anual constante en el número mundial de casos de tuberculosis. Actualmente la tuberculosis es una de las diez principales causas de mortalidad en el mundo. En 2015, la OMS señaló que 10,4 millones de personas enfermaron de

tuberculosis y 1,8 millones murieron por esta enfermedad (entre ellos 0,4 millones de personas con VIH). Estos datos identifican a la tuberculosis como una de las enfermedades infecciosas más letales a nivel mundial (1, 2,3).

Esta enfermedad está considerada como una afección curable y que se puede prevenir. En cualquier caso, es importante distinguir entre enfermedad e infección, ya que no todas las personas infectadas por el bacilo de Koch enferman de tuberculosis. De este modo, existen dos afecciones relacionadas con la tuberculosis: la infección de tuberculosis latente (LTBI, por sus siglas en inglés) y la enfermedad de la tuberculosis activa. Aproximadamente una tercera parte de la población mundial tiene tuberculosis latente, es decir, presentan infección por el bacilo, pero aún no han enfermado ni son transmisores. En estas circunstancias, la inmunidad celular innata cumple un papel determinante en la prevención de la enfermedad tras la infección (2, 3,4).

Alrededor de un 5%-15% de los individuos infectados por *M. tuberculosis* tienen riesgo de enfermar de tuberculosis a lo largo de su vida, aunque existen otros factores, como la diabetes mellitus tipo 2, la desnutrición severa o el consumo excesivo de alcohol y tabaco, que pueden llegar a duplicar dicho riesgo. En las personas inmunocomprometidas, en concreto aquellas infectadas con VIH, el riesgo de desarrollar tuberculosis es mucho más alto que para las personas con el sistema inmunitario normal. De hecho el 12% de todos los nuevos casos de tuberculosis están asociados al VIH, causando en torno al 25% de las muertes por tuberculosis (5).

La tuberculosis presenta una distribución heterogénea, siendo más frecuente en algunas zonas de África y Asia (más del 95% de las muertes por tuberculosis se producen en países de ingresos bajos y medios). En los países occidentales, un determinado número de casos de tuberculosis se presentan entre la población inmigrante, que procede de países con una elevada incidencia de la enfermedad, junto con colectivos residentes en ubicaciones con hacinamiento de alto riesgo, que favorecen la propagación de la enfermedad. A estos grupos hay que añadir el ya señalado de los infectados por VIH (2,3).

## 1.2. Descripción del agente patógeno

Como ya se ha expuesto anteriormente, la mayoría de los casos son atribuidos a *M. tuberculosis* o a la especie estrechamente relacionada *Mycobacterium africanum*. Mientras que una minoría restante de los casos son ocasionados por una zoonosis de las especies *Mycobacterium bovis* o *Mycobacterium caprae*, en las que es posible la transmisión a los seres humanos, a partir de especies animales susceptibles y de sus productos (leche no pasteurizada). *M. tuberculosis*, por el contrario, no presenta ningún reservorio ambiental, siendo la única forma de transmisión de persona a persona la vía aérea (5).

*M. tuberculosis* es un bacilo grampositivo aerobio estricto de crecimiento lento (presenta un tiempo de generación de 20 horas o más). Se caracteriza por contener en sus paredes celulares un elevado porcentaje de lípidos (en su mayoría ácidos micólicos), lo que favorece una elevada refractariedad a cualquier tipo de sustancia. Posteriormente a la tinción con fucsina fenicada (los ácidos micólicos permiten retener dicho colorante) las micobacterias no van a poder ser decoloradas con una mezcla de ácido y alcohol, y por consiguiente van a ser clasificadas como ácido-alcohol resistentes. Para el cultivo del bacilo en el laboratorio son necesarios medios ricos en lípidos, favoreciendo así la síntesis de ácidos micólicos y su proliferación (medio Löwenstein-Jensen) (1).

## 1.3. Fases en el desarrollo de la tuberculosis

La tuberculosis se puede manifestar como una infección primaria o como una reactivación. La tuberculosis primaria se desarrolla en pacientes que no han tenido un contacto previo con *M. tuberculosis*. El bacilo de Koch se mantiene suspendido en el aire en forma de gotículas, por lo que la transmisión se favorece a través de las secreciones respiratorias que expulsa el portador, pudiendo llegar el microorganismo por vía inhalatoria hasta los pulmones. Una vez allí, los bacilos son fagocitados por los macrófagos (primoinfección), formando unos pequeños agregados de nódulos duros, llamados tubérculos. El patógeno se puede multiplicar en el interior de los macrófagos donde sobrevive, se le considera un patógeno intracelular facultativo (1,3).

En esta fase los macrófagos presentan antígenos de *M. tuberculosis* a los linfocitos T de la sangre cuando se encuentran en los ganglios linfáticos. Si los granulomas se calcifican, reciben el nombre de complejos de Ghon. En pacientes con un sistema

inmunológico que funciona correctamente, el proceso suele contenerse en esta etapa, ya que la respuesta inmune primaria es capaz de detener la multiplicación activa del bacilo, quedando aislado éste dentro de las lesiones granulomatosas, y por ello la infección se mantiene latente de manera asintomática. Dicha respuesta inmune puede ofrecer cierto grado de protección en caso de que se produzca una reinfección (1, 3, 4,5).

Existe el riesgo de que la tuberculosis latente (LTBI) se convierta en tuberculosis activa; de darse tal circunstancia, el patógeno se propaga a través de las vías aéreas y causa la destrucción del tejido pulmonar. Las bacterias latentes continúan multiplicándose y la lesión caseosa se licúa, formándose unas cavernas tuberculosas llenas de aire. A partir de estas cavidades la micobacteria, por medio de la sangre, se puede diseminar a nuevos focos de infección por todo el cuerpo (tuberculosis miliar), pudiendo llegar incluso a las meninges (meningitis tuberculosa). Cuando una de esas cavernas llega a los bronquios, la bacteria tiene una vía de salida (expulsando grandes cantidades del patógeno por medio de la tos). Por dicho motivo, *M. tuberculosis* puede estar presente en el esputo, siendo así una fuente de transmisión o de reinfección. En caso de que el paciente con tuberculosis activa no siga ningún tratamiento puede llegar a producirse la muerte en esta etapa (50% de los casos). La sintomatología que la acompaña incluye tos, fiebre, sudores nocturnos y pérdida de peso (1, 2, 4,5, 6).

#### **1.4. Diagnóstico**

Las personas que han sido infectadas por *M. tuberculosis* desarrollan una inmunidad celular, ocasionada por la fagocitosis del microorganismo por parte de los macrófagos y la presentación a LT CD4+. Dicha inmunidad, en la que están implicados los linfocitos T sensibilizados, supone la base de la prueba cutánea de la tuberculina o de Mantoux. En esta prueba se inyecta por vía intradérmica en el antebrazo del paciente 1ml de un derivado proteico purificado de la tuberculina (PPD). Mediante la utilización de este método de diagnóstico se consigue una detección precoz de la infección. Un resultado positivo no indica tuberculosis activa, solamente que el paciente ha estado expuesto al bacilo. Como consecuencia de ello, los linfocitos T sensibilizados reaccionan con el derivado proteico y se produce una reacción de hipersensibilidad retardada de tipo IV en 48 horas, siendo por tanto un método de diagnóstico indirecto (1,3). La tuberculina atrae a las células Th1, las cuales producen citocinas, lo que provoca la activación de los macrófagos, ocasionando en caso de un resultado positivo un enrojecimiento de la zona

que rodea al lugar de la inyección. Muchos adultos sanos son positivos frente a tuberculina, a causa de infecciones previas o actuales asintomáticas, mientras que los vacunados frente a la tuberculosis pueden dar falsos positivos, sobre todo en los primeros años posteriores a la vacunación (vacuna BCG). En la práctica el resultado de la prueba no permite distinguir a un enfermo latente de uno vacunado (4).

Una alternativa a la prueba de la tuberculina se basa en la medición de la concentración de interferón gamma producido por la exposición de los linfocitos T a determinados antígenos propios de *M. tuberculosis* (ESAT-6 y CFP-10). Este otro método, también de diagnóstico indirecto, se denomina IGRA (Interferon-Gamma Release Assays). Aunque conlleva las desventajas de requerir la extracción de sangre del paciente y de que su utilización implica un elevado coste, mediante su uso se evitan los falsos positivos que pueden aparecer en el diagnóstico con la prueba Mantoux (5).

### 1.5. Tratamiento

En lo relativo al tratamiento de la tuberculosis, la terapia antimicrobiana está indicada en pacientes con tuberculosis activa y aquellos que tuvieron contacto en el pasado con casos de tuberculosis activa y que en su situación actual están en riesgo de desarrollar la forma activa de la enfermedad. El descubrimiento de la estreptomina en 1943 supuso un gran avance en el tratamiento de la tuberculosis, aunque la verdadera revolución llegaría con el descubrimiento en 1952 de la isoniacida. Dicho antibiótico inhibe la síntesis de ácido micólico, comprometiendo así la integridad de la pared celular de la micobacteria. Con los años se fueron introduciendo en la terapéutica nuevos antibióticos con diferentes mecanismos de erradicación del patógeno, como la rifampicina, que inhibe la RNA polimerasa del bacilo, y la pirazinamida y el etambutol, de los que se desconoce su mecanismo de acción antimicrobiano. El principal inconveniente es que la bacteria se encuentra en diferentes situaciones de pH, velocidad de crecimiento y de estado intracelular o extracelular, por ello es necesario utilizar una combinación de los anteriores fármacos antituberculosos citados, durante un periodo de larga duración, evitando así la aparición y selección de mutantes resistencias (1, 2, 4).

Durante el proceso de replicación de *M. tuberculosis* pueden surgir mutaciones de origen cromosómico que le confieren al bacilo resistencia a los fármacos antituberculosos, pero estas mutaciones no están ligadas. Ello implica que la resistencia

a un fármaco no esté asociada a la resistencia a otro fármaco no relacionado; esto obliga a utilizar en el tratamiento antituberculoso una combinación de diferentes antibióticos. El problema surge cuando el paciente decide interrumpir de forma prematura el tratamiento, a causa de los graves efectos adversos que pueden aparecer, o cuando se realiza una mala utilización de los medicamentos antituberculosos, apareciendo en ambos casos nuevas cepas resistentes a la quimioterapia actual. Entre estas cepas se diferencian dos tipos, dependiendo de si son multirresistentes, conocidas por sus siglas en inglés TB-MDR (*Multi Drug Resistant*), o de si son cepas extremadamente resistentes, conocidas como TB-XDR (*Extensive Drug Resistant*) (2, 4,5).

Cabe destacar que el elevado coste de los fármacos de segunda línea puede condicionar que se proporcione un tratamiento adecuado a los grupos de población sin recursos en las zonas con prevalencia de TB-MDR. Por otro lado, el tratamiento de los pacientes con cepas TB-XDR supone un gran reto, ya que ni siquiera responden a los medicamentos antituberculosos de segunda línea más eficaces, con lo que estos pacientes quedan sin otras opciones de tratamiento. Con el fin de evitar estas situaciones, en las que el tratamiento farmacológico ya no es del todo eficaz, los esfuerzos y recursos deben centrarse en el desarrollo de medidas preventivas primarias como son las vacunas, para intentar de este modo erradicar la enfermedad (2,5).

### **1.6. Vacuna utilizada hasta la fecha**

Actualmente, más de 90 años después de su diseño, la vacuna BCG (bacilo de Calmette y Guérin) se mantiene a nivel mundial como la única vacuna comercializada frente a la tuberculosis. Fue diseñada entre 1908 y 1921 en el instituto Pasteur por Albert Calmette y Camille Guérin. Se trata de una vacuna viva atenuada que fue desarrollada a partir de una cepa de *M. bovis* patógena, la cual fue inoculada en animales, comprobando que tras su administración estos no enfermaban de tuberculosis. Posteriormente se llevó a cabo el primer ensayo clínico de la vacuna en niños, que mostró resultados esperanzadores, reduciendo de un 25% a un 1,8% las cifras de mortalidad infantil por tuberculosis en los pacientes a estudio. La atenuación de la vacuna BCG está basada en la pérdida irreversible de más de cien genes, estando algunos de ellos implicados en la virulencia. Algunos son importantes antígenos reconocidos por el sistema inmunitario, como ESAT-6, utilizado en la prueba diagnóstica IGRA. A pesar del proceso de atenuación, la vacuna conserva una gran cantidad de antígenos, siendo muchos de ellos



comunes a *M. tuberculosis* lo que, permite desencadenar una respuesta inmune con la que prevenir la enfermedad de la tuberculosis (6, 7).

La OMS recomienda su empleo en países que presenten una elevada incidencia de tuberculosis, especialmente en los países en vías de desarrollo. Por su parte, en los países desarrollados, con tasas menores de incidencia de la enfermedad, no se incluye en los programas de vacunación, y se dedican más recursos a las pruebas diagnósticas. Únicamente se recomienda para ciertos niños con alto riesgo de contacto con la tuberculosis y con resultados negativos a la prueba de la tuberculina (2).

Destaca por ser la vacuna más utilizada a lo largo de la historia contra una enfermedad infecciosa, siendo una de las más seguras del mundo para todos los grupos poblacionales, a excepción de los pacientes inmunodeprimidos, en los que la vacuna podría causar la enfermedad activa. Es preferible su administración tras el nacimiento y posee una gran eficacia en prevenir la tuberculosis diseminada y la meningitis tuberculosa, así como las formas más graves de la enfermedad, como la TB-MDR y la TB-XDR (6, 7).

A pesar de sus múltiples virtudes, la vacuna presenta dos grandes limitaciones que afectan a su utilidad como herramienta de control de la enfermedad. Cabe destacar, en primer lugar, la falta de protección de la vacuna frente a la tuberculosis pulmonar en adultos, siendo la forma de la enfermedad que resulta contagiosa, por lo que no es útil como herramienta profiláctica. En segundo lugar, esta vacuna presenta poca capacidad para inducir una respuesta duradera en el tiempo, ya que sólo es capaz de estimular la formación de linfocitos de memoria efectores, pero no centrales, de manera que la tuberculosis pulmonar puede manifestarse y adquirirse incluso tras haber sido vacunado de BCG. Estas limitaciones implican la necesidad de desarrollar nuevas vacunas con el objetivo de poder erradicar la enfermedad (6,7).

## **2. Objetivos**

El objetivo principal de este trabajo es hacer un análisis comparado de una selección de diferentes vacunas frente a la tuberculosis que están en procesos de desarrollo en la

actualidad. El repunte de casos de una grave enfermedad como esta, que en el pasado siglo parecía condenada a desaparecer, ha venido motivado entre otras causas por las carencias presentadas por la vacuna BCG. Por esta razón, el análisis y la recopilación de la información se van a centrar en el estudio de las características de las vacunas candidatas, que podrían contribuir, una vez completados con éxito los ensayos clínicos, a que sean utilizadas de forma alternativa o complementaria a la vacuna actual. La realización de este análisis pretende determinar como fin último, la idoneidad de los diferentes tipos de vacunas estudiadas para alcanzar resultados óptimos en las diferentes situaciones posibles.

### **3. Metodología**

El método principal utilizado en este trabajo fue la revisión bibliográfica. Inicialmente, y a fin de caracterizar la enfermedad y el patógeno que la ocasiona, se han estudiado manuales de la biblioteca de Farmacia de la Universidad Complutense, junto con libros virtuales disponibles online. Como fuentes de información sobre nuevos avances en los estudios de nuevas vacunas frente a la tuberculosis se han consultado publicaciones científicas, tanto nacionales como internacionales, utilizando buscadores de artículos científicos como Pubmed y ScienceDirect. Asimismo se ha hecho uso de fuentes oficiales de datos sanitarios y de investigación, procedentes de páginas web de organismos de referencia, tales como la Organización Mundial de la Salud.

### **4. Resultados y discusión**

#### **4.1. Limitaciones de la vacuna BCG y búsqueda de nuevas vacunas**

Desde su introducción en 1921, la vacuna BCG no ha logrado erradicar la tuberculosis tal y como se esperaba, aunque ha conseguido evitar las complicaciones más graves que pueden seguir a la primoinfección tuberculosa, como son la meningitis y la tuberculosis miliar, reduciendo así el número de fallecimientos. Es importante destacar que se ha comprobado que la vacuna no ejerce un efecto duradero en la edad adulta ni protege frente a la tuberculosis pulmonar en adultos, siendo esta la vía de contagio de la enfermedad (6, 8).

Para solventar estas carencias de la vacuna BCG, en los últimos años se han destinado considerables esfuerzos y recursos económicos, de origen público y privado, a la búsqueda y desarrollo de nuevas vacunas frente a las formas de la enfermedad que afectan al aparato respiratorio, a fin de conseguir la erradicación de la enfermedad. Las principales estrategias están centradas en modificar la vacuna BCG para hacerla más inmunogénica o reforzar la vacunación primaria con BCG con nuevas vacunas que aumenten la protección. También se están estudiando algunas vacunas de bacterias vivas con el fin de reemplazar completamente la BCG. Estas características deben alcanzarse sin dejar de lado otras con las que cuenta la vacuna BCG: seguridad, bajo coste, aplicabilidad a cualquier población y compatibilidad con el resto del calendario vacunación (6, 8).

La publicación en 1998 de la secuencia completa del genoma de *M. tuberculosis* permitió identificar los genes del bacilo que producen antígenos y los que son responsables de su virulencia. Esto, sumado a la mejora del conocimiento de la inmunopatología del bacilo, ha favorecido la investigación de nuevas vacunas para la prevención y el tratamiento de la tuberculosis (6).

Para la realización de estos estudios, *M. tuberculosis* resulta difícil de manipular y los ensayos deben realizarse en laboratorios con un nivel de bioseguridad de tipo tres, debido a la facilidad de contagio del patógeno y a la dificultad de su tratamiento. Por otro lado, el bacilo presenta un crecimiento lento, por lo que los estudios de investigación de nuevas vacunas frente a la tuberculosis serán de larga duración (6).

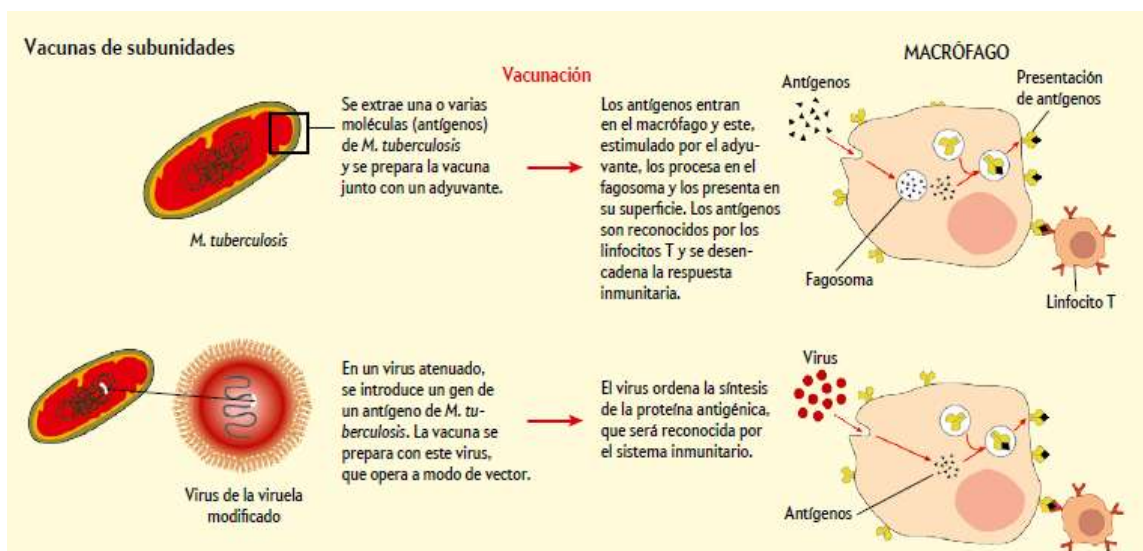
En el primer Foro Global sobre Vacunas frente a la Tuberculosis, realizado en 2001, aún no había ninguna vacuna en proceso de desarrollo para sustituir a la BCG. Por el contrario, en 2015, fecha del cuarto Foro Global, ya existían al menos 15 vacunas y combinaciones de vacunas candidatas, sometidas a evaluación en ensayos clínicos. El desarrollo de muchas de estas se encuentra en fase muy avanzada, llegando incluso a la fase 3, como es el caso de la vacuna Vaccae. En este proceso han tenido especial protagonismo dos organizaciones que en la actualidad se encargan de acelerar la aplicación en humanos de las nuevas vacunas frente a la tuberculosis: la europea TBVI (Iniciativa Europea para la Vacunación contra la Tuberculosis) y la estadounidense Aeras (apoyada por la fundación Bill y Melinda Gates) (9).

## 4.2. Tipos de vacunas en desarrollo

Los estudios en curso se centran en el desarrollo de dos tipos principales de vacunas preventivas: las de subunidades y las vivas. Existe además otra estrategia, conocida como la vacunación terapéutica, diferente de la preventiva, en cuanto a que trata de estimular el sistema inmunitario de las personas infectadas de manera latente, con el fin de acortar el tratamiento farmacológico y hacer frente al reservorio de patógenos que hay en el organismo. No obstante, la mayoría de las vacunas en desarrollo son de carácter preventivo y tienen como finalidad evitar la infección, bien remplazando a la vacuna actual, o mejorando la eficacia de la misma al ser administradas conjuntamente (6, 9,10).

## 4.3. Vacunas preventivas de subunidades

El principal objetivo de las vacunas de subunidades es aumentar la eficacia de la actual vacuna BCG. Esto se consigue mediante la utilización de proteínas antigénicas de *M. tuberculosis*, que una vez purificadas, se administran junto con adyuvantes (sustancias estimuladoras del sistema inmunitario que potencian la acción de las vacunas). También se pueden incorporar los genes responsables de la síntesis de antígenos a través de virus genéticamente modificados. Las vacunas de subunidades se obtendrían, por tanto, a través de dos métodos (6,11):



Para la realización de ensayos preclínicos en este tipo de vacunas se parte de animales de experimentación inmunizados previamente con BCG, a los que con posterioridad se

administra la vacuna de subunidades. Mediante la inclusión en la vacuna de alguno de los antígenos perdidos durante el proceso de atenuación de BCG, no sólo se pretende prolongar la inmunidad que ésta proporciona, sino mejorarla y ampliarla (6).

Algunas vacunas de subunidades de especial relevancia:

La vacuna **MVA85A** fue sintetizada por un grupo liderado por Helen McShane, de la universidad de Oxford, con el objetivo de ser utilizada como una vacuna de refuerzo para niños, adolescentes y adultos. Para su desarrollo se utilizó el virus MVA (siglas en inglés de virus modificado de Ankara), que presenta una amplia seguridad y puede inducir tanto la respuesta inmune celular como la humoral. El virus de MVA fue atenuado y se utilizó como vector viral no replicativo, siendo modificado genéticamente para expresar el antígeno Ag85A (MVA85A), una proteína propia de *M. tuberculosis*, tratando de mejorar así la respuesta inducida por BCG. La hipótesis de la que partían era que mediante la vacunación de los pacientes, primero con BCG, luego con el virus portador del gen Ag85A, y una tercera vacunación con el antígeno Ag85A junto con un adyuvante, se proporcionaría una inmunidad superior a la obtenida sólo con BCG (6, 9,10).

En un principio, durante los ensayos preclínicos, la vacuna en estudio parecía ser la más prometedora frente a la tuberculosis, mostrando una potente inmunización en cobayas previamente vacunadas con la vacuna BCG. Los ensayos clínicos de primera fase determinaron que podía ser administrada con seguridad en humanos, si bien con el tiempo supuso una gran decepción a la comunidad científica, dado que en los estudios de eficacia de fase IIb, realizados en Sudáfrica con 2797 recién nacidos sanos, no se obtuvieron los resultados esperados. Estos demostraron que la vacuna experimental no ofrecía una mejoría respecto a la actual, ya que no protegía frente a la enfermedad ni impedía la transmisión. A pesar de los resultados adversos, el mismo equipo liderado por la Universidad de Oxford ha decidido seguir adelante con otro ensayo de este compuesto en adultos infectados por el VIH en Sudáfrica (6, 9, 10).

La vacuna candidata **H56:IC31** se está desarrollando en el Statens Serum Institut (SSI) de Dinamarca en cooperación con la asociación estadounidense Aeras. Presenta como población diana a adultos y adolescentes con tuberculosis latente, teniendo como objetivo la mejora de la respuesta inmune y el control de la infección, para así prevenir

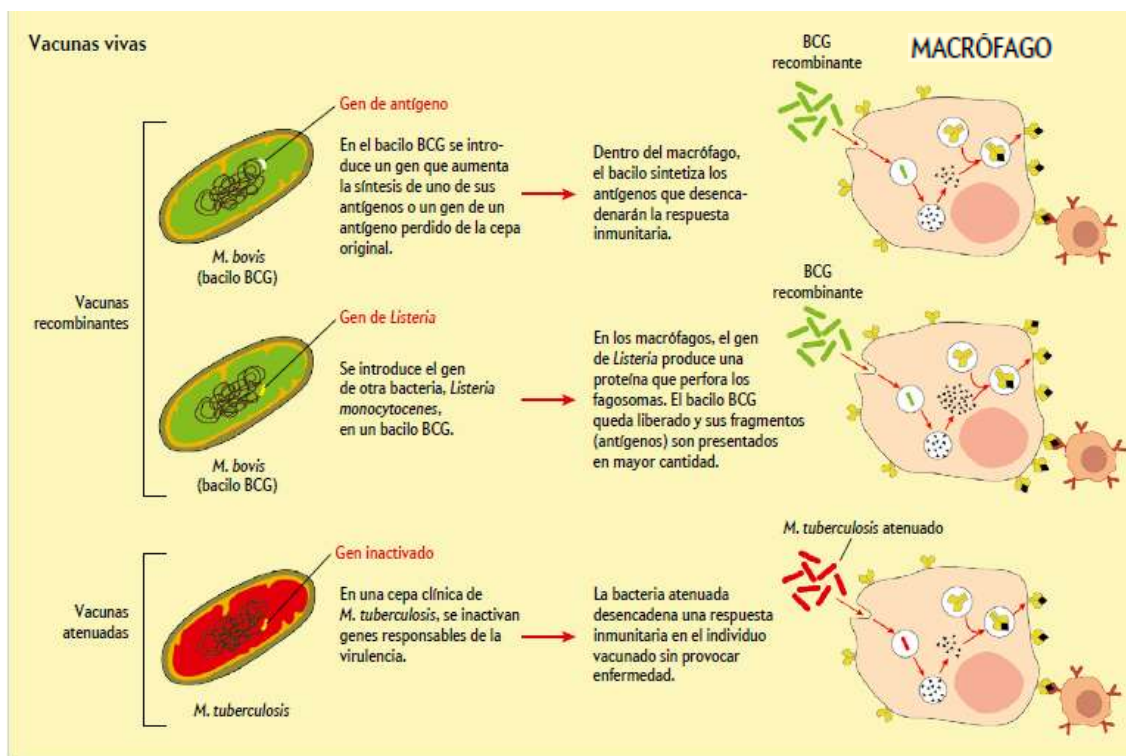
la reactivación de la tuberculosis en individuos con LTBI. Se trata de una vacuna de subunidades compuesta por una proteína de fusión que contiene tres antígenos de *M. tuberculosis* (Ag85B, ESAT-6 y el antígeno latente Rv2660c) combinados con el adyuvante IC31. La delección del antígeno ESAT-6 en la vacuna BCG como consecuencia de los múltiples pases a los que ha sido sometida para su conservación, está relacionada con la pérdida de eficacia protectora de la actual vacuna (6, 9, 12,13).

En los ensayos preclínicos de esta vacuna candidata, realizados en primates que habían sido vacunados previamente con BCG, la vacuna demostró ser segura e inmunogénica, mostrando un excelente control de la infección latente. Actualmente la vacuna se encuentra en la fase IIa de los ensayos clínicos y se prevé realizar un estudio de prevención de la infección por *M. tuberculosis* en adolescentes que no han sido infectados, pudiendo ser utilizada esta vacuna tanto de forma preventiva como terapéutica. Su principal desventaja es que, al estar compuesta por una combinación de varios antígenos y fórmulas complejas de adyuvante, el desarrollo y análisis de la vacuna H56:IC31 resultará muy costoso (6, 9, 12,13).

Como tercera vacuna de subunidades relevante, la vacuna **M72/AS01E** está siendo desarrollada por la compañía farmacéutica GlaxoSmithKline (GSK) en asociación con la estadounidense Aeris. Su estructura comprende una proteína de fusión inmunogénica (M72) derivada de dos antígenos de *M. tuberculosis* (MTB32A y MTB39A), con capacidad de contener la infección al inducir fuertemente la respuesta de linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>, y el adyuvante AS01e. En los ensayos clínicos realizados en adultos, con o sin exposición previa a *M. tuberculosis* o a la vacuna BCG, mostró un perfil elevado de tolerabilidad e inmunogenicidad, induciendo una respuesta multifuncional de larga duración de LT CD4<sup>+</sup> (se mantuvo 6 meses después de la aplicación de la vacuna). Se ha reportado la realización de un estudio de eficacia en fase IIb a 3573 adultos en tres países de África, y se prevé obtener resultados a comienzos de 2019 (6, 9, 10,13).

#### 4.4. Vacunas preventivas vivas

Dentro de este tipo de vacunas se distinguen dos subtipos:



##### 4.4.1. Vacunas recombinantes vivas

Este subtipo de vacunas preventivas vivas incorpora el bacilo de la vacuna BCG, al que se han incorporado ciertos genes de especial interés.

Entre estas cabe mencionar la vacuna **VPM1002**, que está siendo desarrollada por un equipo dirigido por Stefan Kaufmann, del instituto Max Planck de Berlín. La estrategia aplicada tiene como objetivo principal el aumento de la inmunidad celular de la vacuna BCG, mediante la inserción por recombinación en el bacilo de la vacuna de un gen de la bacteria *Listeria monocytogenes* (6,13).

La vacuna VPM1002 expresa la proteína perforante de membrana listeriolisina, que es codificada por el gen *hly*, lo que permite al bacilo BCG perforar la membrana del fagosoma, y quedar liberado en el citoplasma del macrófago infectado, favoreciendo así la presentación de antígenos de clase I de la micobacteria a los linfocitos T CD8<sup>+</sup>. En los ensayos clínicos ha demostrado ser segura en adultos sanos, con un perfil de reacciones adversas comparable al de BCG, sin notificarse ninguna transmisión de persona a persona tras su administración. VPM1002 induce una fuerte respuesta de linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>. Actualmente los ensayos clínicos de esta vacuna se

encuentran en la fase IIb, con un estudio de seguridad e inmunogenicidad de la vacuna en recién nacidos (en comparación con BCG) que está en proceso de realización (6, 9, 10,13).

#### 4.4.2. Vacunas vivas atenuadas

En los últimos veinte años el desarrollo de la ingeniería genética aplicada al bacilo de la tuberculosis ha hecho posible el diseño de nuevas vacunas vivas basadas en la eliminación de determinados genes, mediante la realización de una atenuación dirigida, y no al azar, como ocurrió en la vacuna BCG. Las vacunas obtenidas con estas técnicas se denominan vacunas vivas atenuadas. Es importante destacar la implicación de un equipo de investigación español, de la Universidad de Zaragoza, en el desarrollo de una nueva vacuna preventiva sustituta de la BCG. Esta vacuna, denominada **MTBVAC** (acrónimo en inglés de *Mycobacterium tuberculosis* vaccine), ha sido la primera vacuna viva atenuada basada en micobacterias de origen humano frente a tuberculosis que ha entrado en un ensayo clínico de fase I (6, 10,14).

Para su desarrollo, el equipo dirigido por el investigador Carlos Martín se centró en la observación de una cepa de *M. tuberculosis* causante de un gran brote (MT103), descubriendo en ella una alteración en la regulación de un gen denominado *phoP*. La hipótesis de la que partieron para el desarrollo de su estudio era que, si el aumento de la expresión de este gen conllevaba una mayor virulencia, su eliminación podría atenuar la patogenicidad de *M. tuberculosis* (6, 7,9)

El gen *phoP* actúa regulando un gran número de genes de *M. tuberculosis*, involucrados en múltiples funciones, como la síntesis de lípidos de la pared del patógeno, la respuesta a la hipoxia y al medio ácido. Dicho gen además es responsable de la síntesis de la proteína ESAT-6, uno de los principales factores de virulencia del patógeno. De este modo, en una cepa de origen clínico se suprimió únicamente el gen *phoP*, observándose que la micobacteria mutante no era capaz de secretar ESAT-6 y, además no producía una serie de lípidos que ayudaban a contrarrestar la respuesta inmunitaria del huésped (6).

Uno de los principales requisitos de las vacunas vivas derivadas de *M. tuberculosis* es su absoluta seguridad para su uso en humanos, asegurando el cumplimiento de los



criterios de Ginebra. Para poder garantizar estos criterios, fue necesario el desarrollo de una nueva generación de vacunas basadas en la micobacteria mutante para el gen *phoP* en las que, al mismo tiempo, se suprimió otro gen (*fadD26*). Este último gen es responsable de la síntesis de un lípido esencial para la virulencia del patógeno, el fenoltiocerol-dimicocerosato (PDIM), que juega un importante papel en la permeabilidad de la pared celular a radicales oxidantes y la supervivencia intracelular del patógeno. Esta cepa, que no contiene los genes *phoP* y *fadD26*, ni ningún gen de resistencia a antibióticos, es la que se conoce como la vacuna experimental MTBVAC (6, 9,10).

En los ensayos preclínicos, MTBVAC ha sido evaluada en ratones y cobayas, y se ha comparado con la vacuna BCG, demostrando la misma seguridad y los mismos perfiles de distribución por el cuerpo que BCG. Sin embargo, la vacuna MTBVAC confiere una mayor protección frente a la infección por *M. tuberculosis* que la vacuna clásica BCG, observándose una reducción de la carga bacilar pulmonar (14).

En noviembre de 2013 se anunció la finalización de la fase de vacunación del primer ensayo clínico (fase I) de la vacuna española MTBVAC, que se realizó en el Centro Hospitalario Universitario de Vaudois (CHUV) en Lausanne, Suiza. La prueba se llevó a cabo en 36 voluntarios adultos de entre 18 a 45 años, sin exposición previa al bacilo, a quienes se les administró la vacuna en un ensayo doble ciego. El análisis inicial de los datos del ensayo ha mostrado un perfil aceptable de seguridad y una fuerte memoria inmunológica detectada a los 210 días post-vacunación, demostrando ser al menos tan inmunogénica como BCG. Sin embargo, el número de pacientes en estudio es pequeño como para apoyar el análisis estadístico (6,9, 15).

Estos resultados han sido fundamentales para la puesta en marcha de la siguiente fase de ensayo en un país endémico de tuberculosis, como es Sudáfrica. Este ensayo clínico está diseñado para evaluar la seguridad y la inmunogenicidad de MTBVAC en recién nacidos. Si finalmente, MTBVAC demuestra su superior eficacia en todas las fases de la evaluación clínica podría sustituir a BCG y proteger contra la tuberculosis a millones de niños, adolescentes y adultos, pero hay que ser cautos todavía. Los investigadores están interesados en poder hacer todo esto cuanto antes, pero el coste que supone es el principal condicionante (6, 9).

#### 4.5. Vacunas terapéuticas

El desarrollo de estas vacunas se orienta al tratamiento de pacientes ya infectados por *M. tuberculosis*, como tratamiento coadyuvante a la quimioterapia. Para su diseño es indispensable elegir cuidadosamente los antígenos que se van a introducir en la vacuna. Entre las vacunas terapéuticas que se están evaluando en ensayos clínicos actualmente destaca la vacuna **RUTI**, constituida por fragmentos liposomales inactivados por calor de *M. tuberculosis*. Su desarrollo tiene por objetivo completar el tratamiento de la tuberculosis latente, para ser administrada después de la terapia antimicrobiana de corta duración, acortando así el tiempo del tratamiento farmacológico. En los ensayos clínicos de fase I, la vacuna RUTI administrada por vía subcutánea fue bien tolerada, a excepción de una pequeña reacción local en el sitio de inyección. Además indujo una respuesta específica celular y humoral. Actualmente se está valorando su eficacia en un ensayo clínico en fase IIa (10,16).

Otra vacuna terapéutica a destacar es la denominada **Vaccae**, obtenida por medio de la inactivación por calor de *Mycobacterium vaccae*. No se ha apreciado ningún efecto adverso al ser administrada en series de varias dosis en los ensayos clínicos y ha demostrado en un ensayo en fase III su capacidad para prevenir la tuberculosis en pacientes coinfectados con VIH y que ya habían sido vacunados con BCG durante la infancia (10,16).

#### 5. Conclusiones

Entre los objetivos estratégicos establecidos por la OMS para los años venideros, se encuentran la reducción de la incidencia de la tuberculosis en 2015 y su erradicación antes de 2050. Para alcanzarlos es esencial la puesta en marcha de estrategias combinadas, basadas en herramientas para el diagnóstico rápido, medicamentos efectivos contra la TB-MDR y las vacunas. Esta revisión bibliográfica se ha centrado en esta última estrategia (2).

En la actualidad existen varios tipos de vacunas en estudio frente a la tuberculosis, bien preventivas o terapéuticas. Dado que ambas opciones funcionan a diferentes niveles (pre-exposición o post-exposición), ambos tipos pueden considerarse complementarias y es de esperar que consigan erradicar la tuberculosis. Sobre la base del análisis de los

resultados que se están obteniendo en los últimos años de las vacunas candidatas a sustituir a la BCG se deducen las siguientes conclusiones:

- La erradicación de la tuberculosis a medio plazo supone un gran desafío para la comunidad científica. Para hacer frente a este desafío puede ser necesario el uso de varios tipos de las vacunas en estudio, aplicadas en las diferentes situaciones posibles.
- En relación con la población ya inmunizada con BCG, y dada la poca eficacia de esta vacuna en adultos, las vacunas de subunidades que potencian su acción representan un importante progreso.
- Otro de los objetivos consiste en proteger a la población infectada de forma latente con *M. tuberculosis*. En ellos, la combinación de vacunas terapéuticas y el tratamiento con antibióticos está dando buenos resultados.
- Las nuevas vacunas candidatas han de estimular el sistema inmunitario a largo plazo, de modo que la protección no sólo se garantice a los recién nacidos, sino que también se mantenga en la etapa adulta. Para este objetivo, las preparaciones vivas atenuadas que imitan la infección sin causar la enfermedad se perfilan como candidatas idóneas.
- Por último, la erradicación en los países en vías de desarrollo debe contemplar la puesta en marcha de campañas de vacunación masiva, lo que exige a las futuras vacunas una fabricación a gran escala y con bajo coste. A estos efectos, las preparaciones vivas han demostrado una excelente relación entre coste y beneficio.

Es de esperar que en los próximos años se consoliden y finalicen los estudios a cargo del equipo de investigación de la Universidad de Zaragoza. Sería deseable que la vacuna MTBVAC alcanzará un lugar predominante entre las distintas vacunas candidatas en desarrollo, y que llegara a remplazar en el futuro a la vacuna BCG como vacuna de referencia a nivel mundial.

## Bibliografía

1. Prescott L, Harley J, Klein D. Microbiología. 4<sup>th</sup> ed. Madrid: McGraw-Hill, Interamericana de España; 2003.
2. Tuberculosis. Organización Mundial de la Salud. Mayo 2017. (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/es/>).
3. Porth C, Cwi S. Fisiopatología. 7<sup>th</sup> ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2010.
4. Brock T, Madigan M, Martinko J, Bender K, Buckley D, Stahl D. Biología de los microorganismos. 16<sup>th</sup> ed. Madrid: Pearson Educación; 2015.
5. Pai M, Behr M, Dowdy D, Dheda K, Divangahi M, Boehme C, et al. Tuberculosis. Nature Reviews Disease Primers. 2016; 2:1-10. doi:10.1038/nrdp.2016.76.
6. Asensio JG., Aguiló N., Martín C. Nuevas vacunas contra la tuberculosis. Investigación y ciencia. Mayo 2017: 38-46.
7. Martín C. Nueva generación de vacunas contra la tuberculosis ¿Mejorar BCG o reemplazar BCG? ([http://www.socinorte.com/informa/attachments/zaragoza/Sesion\\_I/Nueva\\_generacion\\_de\\_vacunas\\_contra\\_la\\_tuberculosis\\_Carlos\\_Martin.pdf](http://www.socinorte.com/informa/attachments/zaragoza/Sesion_I/Nueva_generacion_de_vacunas_contra_la_tuberculosis_Carlos_Martin.pdf))
8. Ruiz Manzano J, Vilaplana C. ¿Trataremos la tuberculosis con vacunas en el siglo xxi? Arch de Bronconeumología. 2014. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.arbres.2014.03.001>).
9. Ginsberg A, Ruhwald M, Mearns H, McShane H. TB vaccines in clinical development. S16-S20. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.tube.2016.05.013>).
10. Montagnani C, Chiappini E, Galli L, de Martino M. Vaccine against tuberculosis: what's new? BMC Infectious Diseases. 2014;14 (Suppl 1):1-6.
11. Acevedo G. ¿Qué hay de nuevo en tuberculosis pulmonar? Estrategias de prevención, avances en vacunación y medicamentos. Temas de medicina familiar. (<https://preventiva.wordpress.com/2017/02/15/que-hay-de-nuevo-en-tuberculosis-pulmonar-estrategias-de-preencion-avances-en-vacunacion-y-medicamentos/>).
12. Bocanegra-García V, Valencia-Delgadillo J, Cruz-Pulido W, Cantú-Ramírez R, Rivera-Sánchez G, Palma-Nicolás J. De la genética a la genómica en el diseño de nuevas vacunas contra la tuberculosis. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2011; 29(8):609-614.
13. Aeras. Mayo 2017. (<http://www.aeras.org/candidates>).
14. Aguiló N, Uranga S, Marinova D, Monzon M, Badiola J, Martín C. MTBVAC vaccine is safe, immunogenic and confers protective efficacy against *Mycobacterium tuberculosis* in newborn mice. 2017.
15. Spertini F, Audran R, Chakour R, Karoui O, Steiner-Monard V, Thierry A. Safety of human immunisation with a live-attenuated *Mycobacterium tuberculosis* vaccine: a randomised, double-blind, controlled phase I trial. The Lancet Respiratory Medicine. 2015; 3(12):953-962.
16. Cardona P, Amat I. Origen y desarrollo de RUTI, una nueva vacuna terapéutica contra la infección por *Mycobacterium tuberculosis*. Archivos de Bronconeumología. 2006; 42(1):25-32.